

# 視細胞変性ラット網膜の組織適合複合体 classⅡ陽性細胞の局在及び網膜色素上皮細胞移植後の局在の変化

著者	赤石 佳子
号	1462
発行年	1998
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21593">http://hdl.handle.net/10097/21593</a>

氏 名（本籍） あか いし けい こ  
赤 石 佳 子

学 位 の 種 類 博 士 ( 医 学 )

学位記番号 医博第 1462 号

学位授与年月日 平成 10 年 3 月 25 日

学位授与の条件 学位規則第4条第1項該当

研 究 科 専 攻 東北大学大学院医学系研究科  
(博士課程) 外科学系専攻

学 位 論 文 題 目 視細胞変性ラット網膜の組織適合複合体 class II  
陽性細胞の局在及び網膜色素上皮細胞移植後の局  
在の変化

(主 查)

論文審査委員 教授 玉井 信 教授 田林 暁一

教授 名 倉 宏

# 論文内容要旨

## 目 的

Royal College of Surgeons ラット（以下 RCS ラット）は遺伝性に網膜変性を起こす動物として知られている。網膜色素上皮細胞（RPE）の貪食能異常により、視細胞外節が異常に蓄積し、視細胞が変性、消失する。RCS ラットの変性過程及び、RPE 移植における免疫反応を調べるため、ラット網膜の主要組織適合性複合体 class II（MHC class II）陽性細胞数の変動を、免疫組織化学的に検討した。

## 方 法

RCS ラットの変性過程における免疫組織化学

生後 10 日、20 日、28 日、42 日、63 日、140 日の RCS 網膜変性ラット（rdy/rdy）及びコンジェニックコントロールラット（+/+）の眼球について抗 MHC class II 抗体（OX 6）を用いて、免疫組織化学的に陽性細胞数を調べた。また生後 42 日の RCS ラット網膜に対し、抗マクロファージ（ED 1, ED 2）抗体、抗マイクログリア（OX42）抗体を用いてその陽性細胞の局在を調べ、抗マクロファージ抗体及び抗 MHC class II 抗体、抗マイクログリア抗体を用いた二重染色を行った。

網膜色素上皮移植後の免疫組織化学

生後 20 日の RCS ラット眼に対し、生後 5－7 日の DA ラットから採取した RPE 細胞を経強膜的に網膜下腔に移植した。対象としてリン酸緩衝食塩水（PBS）を同様の方法で網膜下腔に注入した。移植眼球に対し、抗 OX 6 抗体を用いて、免疫組織化学を行った。

## 結 果

rdy/rdy ラットでは加齢性に外顆粒層の減少が認められ、異常な視細胞外節の蓄積が認められた。rdy/rdy ラットでは、生後 20 日のものから、140 日のものまで、網膜外顆粒層、視細胞外節、外網状層に MHC class II 陽性細胞が認められた。RPE においては、陽性細胞は認められなかった。生後 10 日のものでは網膜の層に MHC class II 陽性細胞は認められなかった。陽性細胞の数は生後 20 日から 42 日にかけて有意に増加し 42 日から 140 日にかけて有意に減少していた。+/+ラットでは網膜に MHC class II 陽性細胞は認められなかった。

MHC class II 陽性細胞の同定のため、生後 42 日 RCS ラット網膜に対し、ED1, ED2, OX42 抗体で検索をした。ED1 陽性細胞が rdy/rdy ラット網膜の外顆粒層に認められ、+/+ラットで

は網膜に認められなかった。ED2 陽性細胞は rdy/rdy ラット, +/+ラット網膜で認められなかった。OX42 陽性細胞が, rdy/rdy ラット網膜の全層に認められた。+/+ラット網膜では内顆粒層, 内網状層及び神経節細胞層に認められた。rdy/rdy ラット網膜の外顆粒層に抗 OX6 抗体と抗 ED1 抗体で二重染色される細胞と, 抗 OX6 抗体のみで染色される細胞, 抗 ED1 抗体のみで染色される細胞が認められた。抗 OX6 抗体と抗 OX42 抗体で二重染色される細胞は認められなかった。

網膜の視細胞は, 移植操作を行ったもので, 良く保たれていた。視細胞は RPE 移植された網膜がよりよく保たれていた。生後 28 日 (移植後 8 日) の, 移植眼では, 網膜下に色素上皮細胞が生着しているのが認められ, 外顆粒層は保たれ, 外節の構造もはっきりしていた。生後 63 日 (移植後 43 日) の移植眼において, 網膜下及び debris に色素上皮細胞が認められ, 変性は進行していたが, 外顆粒層は自然経過のものに比べ保たれていた。この移植眼に対し免疫組織化学を行った。MHC class II 陽性細胞は生後 28 日 (移植後 8 日), 42 日 (移植後 22 日), 63 日 (移植後 43 日) の各々で網膜外顆粒層, 視細胞外節に認められた。陽性細胞の数は生後 28 日から 42 日にかけて有意に増加し 42 日から 63 日にかけて有意に減少していた。MHC class II 陽性細胞数は, RPE 移植眼と PBS 注入眼は, 未処置眼と比べ生後 28 日及び 42 日で有意に減少していた。生後 63 日では PBS 注入眼と未操作眼及び RPE 移植眼に有意差はなかった。生後 42 日では RPE 移植眼と PBS 注入眼では PBS 注入眼の MHC class II 陽性細胞数が有意に減少していた。

## 結 論

rdy/rdy ラットでは, 網膜に MHC class II 陽性細胞が認められた。その数は網膜変性が急速に進行している時期に増加し, 変性が終了した時期に減少していた。MHC class II 陽性細胞はマイクログリアの抗原を持つものではなく, 血液由来のものと考えられた。移植操作によって, rdy/rdy ラット網膜の MHC class II 陽性細胞数は, 生後 28 日及び生後 42 日で未処置眼より減少した。

## 審査結果の要旨

網膜色素変性症は夜盲や中心視力障害を主訴とする疾患で、遺伝盲の第一位を占め、現在まで治療法のない難病である。この疾患の本態は遺伝子異常により、視細胞である杆体又は錐体の光化学変換に関わる蛋白質の異常や、視細胞を栄養する網膜色素上皮にその原因があり、徐々に視細胞が変性脱落することが近年明らかになった。この疾患に対して、変性する視細胞に代わって健全な視細胞を移植したり、色素上皮細胞を移植する試みが実験動物で報告され、さらに欧米や、インドでは患者に臨床応用されたと言う報告がなされた。使われた視細胞は眼球銀行に寄付された眼球や、何らかの理由で人工妊娠中絶された胎児網膜からの視細胞が利用されている。

眼球内は免疫学的に拒絶反応がおきにくい場所として以前より知られ、特に前房内に植えられた同種又は異種組織は、実際長期にわたって生存、分化することも報告された。臨床応用した研究者たちは、その事実を眼内が免疫学的に特殊な場所で、同種移植が可能であることの理由として挙げている。果たして本当に免疫反応は起きないのであろうか。本研究は網膜変性モデル動物である RCS ラットを用い、網膜色素上皮移植によってホストの RCS ラット網膜における視細胞の変性阻止効果と、それに伴う主要組織適合性複合体 class II (MHC class II) 陽性細胞を観察し、その変動を PBS のみを注入した場合と比較することによって、このモデル動物の変性過程における免疫反応の有無と異種細胞の移植による免疫反応惹起の可能性を検索したものである。

生後さまざまな日令で変性ラットと移植ラットにおける抗 MHC class II 抗体を用いて染色し、その数を数えた。その結果、視細胞の変性に伴って陽性細胞は増加し、変性が完了してしまうと減少した。移植によって視細胞の変性が阻止されると、陽性細胞の出現数は減少した。ところが PBS のみを注入した場合、視細胞の保持効果は少ないものの陽性細胞数は色素上皮移植のときに比べ更に少ないことを明らかにした。

MHC 抗原提示細胞は、生体内での免疫反応において自己と非自己との認識の最初の段階である。臓器移植では移植後に MHC class II 抗原が増加することが知られている。今回の研究で色素上皮細胞の移植によって、視細胞が保持されたにもかかわらず、PBS 注入眼よりも多くの陽性細胞が観察されたことは、眼内が免疫学的に拒絶反応がおきにくいとはいえ、同種の細胞移植に対しても、決して免疫学的に安全ではないことを示している。この事実は網膜病変に対する細胞移植による治療の臨床応用に大きな注意を喚起したもので、重要な発見である。指摘された表現、統計学的解析の変更等もなされており博士論文として価値あるものである。